

RAPPORT DE MISSION COTE D'IVOIRE

P.LEBRUN

du 6 Mars 1991 au 18 Avril 1991



Institut de Recherches sur le Caoutchouc

*Département du Centre de Coopération Internationale
en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD)
42, rue Scheffer 75116 Paris (France) - Tél. : (1) 47.04.32.15
Télex : 620871 INFRANCA PARIS*

BUT DE LA MISSION

Il s'agit de la première de deux missions prévues en Côte d'Ivoire en 1991, dans le cadre du projet IRCA de création d'une unité mobile d'électrophorèse d'isoenzymes. Ce "labo" portable doit permettre d'évaluer "in situ" la conformité clonale de jardins à bois d'Hévéa, et éventuellement de contrôler la légitimité des croisements réalisés en sélection.

Le but de cette première mission était essentiellement technique puisqu'il s'agissait de tester l'équipement de l'unité dont s'était la première utilisation sur le terrain et d'en vérifier l'autonomie.

La seconde mission, prévue à l'automne 1991, avait pour but l'application du "labo" portable au contrôle de conformité des jardins à bois de l'IRCA Côte d'Ivoire à Bimbresso, et le test d'une stratégie d'échantillonnage de ces jardins à bois.

LIEU DE LA MISSION

La station et la plantation de l'IRCA Bimbresso en Côte d'Ivoire avec appui technique du laboratoire de physiologie.

DESCRIPTION DU LABO PORTABLE

Le "labo" portable contenant 42 Kg de matériel (voir liste détaillée en annexe I), occupe une cantine de 90 cm x 40 cm. Il se transporte aisément à deux personnes et rentre dans un coffre de voiture. Il peut voyager en avion (compté en Kg supplémentaires).

Il est prévu pour fonctionner avec une infrastructure minimum : Une pièce avec paille, eau courante filtrée, un réfrigérateur et un congélateur.

Une journée complète est nécessaire au montage des différents appareils ainsi qu'au stockage d'eau distillée et à la préparation des solutions d'électrophorèse.

La réalisation des manipulations suppose la mise à disposition d'un manoeuvre non qualifié.

TECHNIQUE D'ELECTROPHORESE

Le déroulement classique d'une "manip" est le suivant : le matin en arrivant, mise à réfrigérer des gels préparés la veille au soir. Muni d'une glacière, départ en plantation . Prélèvement des feuilles : environ une demi-heure pour 25 échantillons se trouvant dans le même jardin à bois. Retour vers la station. Découpage et broyage des feuilles dans un tampon d'extraction préparé la veille. Par précaution, une partie du jus recueilli est congelé tandis que l'autre sert à imbiber un papier Whatman, lequel va être introduit dans le gel. Migration au froid, environ 5 heures. Puis révélation des zymogrammes, environ 1 heure 30 minutes. Entre temps, les gels pour le lendemain sont cuits, éventuellement dégazés et coulés

DEROULEMENT DE LA MISSION

La première "manip", réalisée sur un gel d'amidon non dégazé, n'a pas donné des résultats d'assez bonne qualité pour que les zymogrammes obtenus soient facilement interprétables. Une pompe à vide de modèle "air cadet" a été empruntée au laboratoire de physiologie pour permettre le dégazage des gels et obtenir ainsi une très bonne qualité de "manip". Cette pompe, de faible poids (2,4 Kg) devra désormais venir compléter le "labo portable".

Une analyse complète d'électrophorèse, dans le cadre d'une identification clonale, fait intervenir 12 systèmes enzymatiques. Pour étudier la conformité des jardins à bois, il semble possible de réduire ce nombre à 10 en éliminant deux systèmes non discriminants pour les clones Wickham : les Shikimates deshydrogénase et les Diaphorases. Le coût des analyses s'en trouverait ainsi diminué.

Pour mener à bien ce travail, l'aide d'une personne de confiance connaissant les jardins à bois ainsi que celle d'un ouvrier sans qualifications particulières semble nécessaire. A Bimbresso, ces deux rôles étaient respectivement tenus par KOFFI DABIRE et le chauffeur AKKA.

Cette première mission s'est déroulée suivant un rythme moyen de 25 individus analysés par jour et ceci, quatre jours par semaine. Il serait sans doute rentable lors d'une prochaine mission, d'élever ce nombre à 50 en mélangeant 2 individus dans le même échantillon. Ceci ne sera possible que pour l'étude de jardins à bois de clones Wickham, leur génotype très spécifique étant bien connu.

Il serait alors possible d'analyser 600 individus au cours d'une mission de 25 jours.

RESULTATS

Quarante sept carrés de GT1 contenant chacun entre 100 et 200 souches ont été étudiés. Un premier échantillonnage de 1 individu par carré nous a permis de vérifier qu'il s'agissait bien du clone GT1. Le carré 174, qui montrait un individu "non conforme" a été échantillonné plus précisément. Trente sept individus ont été prélevés dont neuf présentaient le même génotype "non conforme". Ces individus "faux GT1" sont sans doute issus du greffage erroné d'un seedling. Un autre génotype "non conforme", différent du premier, a été repéré dans ce carré, ce qui porte le nombre de "faux GT1" à 10 soit 26% des individus analysés dans le carré 174.

Le carré 362, quant à lui, ne présente qu'un individu faux sur les quatre vingt six analysés.

Ainsi, sur 217 souches prélevées, 11 ne sont pas conformes au GT1, ce qui situe l'impureté de ce jardin à bois autour de 5%. Le détail des prélèvements se trouve en annexe II.

Deux autres clones ont aussi fait l'objet d'une série d'analyses. Il s'agit des clones PB260 et PB217. Pour le premier, 26 individus ont été prélevés dans 10 carrés différents et pour le second, 24 individus provenant de 17 carrés ont été étudiés (voir détails en Annexe III). Toutes les souches sont conformes au clone concerné.

Une autre partie de la mission a été de repérer des marqueurs de génotypes pour la constitution de jardins grainiers. A cette fin, 35 clones de la prospection 1981 (voir liste détaillée en annexe IV) ont été analysés pour les 12 systèmes enzymatiques. Ces clones avaient été choisis pour leur homozygotie au trois locus suivants : Estérase, Leucine aminopeptidase et Alcool deshydrogénase. Il s'avère que beaucoup sont hétérozygotes pour les locus considérés et qu'une étude beaucoup plus fine avec étiquetage de chaque arbre analysé devrait être réalisée si l'on souhaite repérer sans doute possible les génotypes intéressants.

Enfin, quarante neuf clones IRCA ainsi que quarante neuf autres clones ont été identifiés sur douze systèmes enzymatiques (cf liste en Annexe V) La technique utilisée étant simplifiée au maximum puisqu'elle ne fait pas intervenir de purification, certains pigments restent dans les échantillons qui nous empêchent de lire le locus lent des Glutamates oxaloacétate transaminase. Ce locus étant très peu polymorphe, son absence ne gêne pas l'étude des jardins à bois.

A l'occasion de cette "manip" d'identification, il nous a été possible de mettre en évidence la similitude des clones FDR 76 et FDR 79, la conclusion étant qu'il s'agit d'un seul et même clone.

Quant aux clones RO 38 et AC 58, ils présentent un même génotype très particulier puisqu'ils possèdent l'allèle 4 des MDH (Malate deshydrogénase), l'allèle 4 des ADH (Alcool deshydrogénase), tous deux spécifiques de l'espèce *benthamiana* et l'allèle 1 des LAP (Leucine Aminopeptidase), jusqu'ici rencontré une seule fois chez un clone de la prospection 1981: AC.T.01.09. Tout ceci nous amène à penser que les clones AC 58 et RO 38 sont identiques.

CONCLUSION

Au cours de cette première mission, le but initialement prévu pour 2 missions à l'IRCA Côte d'Ivoire a été atteint. Le "labo" portable s'est avéré parfaitement conçu et a été presque immédiatement opérationnel. Il a été ainsi possible de l'appliquer à un contrôle des jardins à bois de l'IRCA Bimbresso.

La stratégie d'échantillonnage qui a été adoptée s'est également avérée efficace : elle a permis d'apprécier la qualité, globalement bonne, des jardins à bois mais également de détecter quelques erreurs d'identité clonale (FDR 76 / FDR 79; RO 38 / AC 58) ainsi que des impuretés dans un carré de GT1, clone de grande diffusion.

Pour la seconde mission initialement programmée, nous nous proposons d'appliquer le "labo" portable au contrôle de conformité des jardins à bois d'une plantation industrielle ou villageoise en côte d'Ivoire. Ceci nous permettra de démontrer définitivement l'intérêt des contrôle de conformité à l'aide de cette unité mobile d'électrophorèse et de chiffrer précisément le coût d'une telle opération.

ANNEXE I

INVENTAIRE DU MATERIEL "LABO PORTABLE"

DISTILLATION DE L'EAU

- * 1 Cartouche laboratoire H83002
- * 1 Cartouche Usage général H83001
- * 1 Applique murale de base H83003
- * 1 Applique additionnelle H83004
- * 1 Embout cannelé H91826
- * 1 Pièce de jonction H91842

PETIT MATÉRIEL

- * 11 Petit Barreaux aimantés 74022
- * 3 Barreaux aimantés moyens 47028
- * 3 gros Barreaux aimantés 47034
- * 1 mètre carré de toile à blutter NY 48
- * 1 Pipetman Gilson P5000
- * 1 Pipetman Gilson P1000
- * 11 Cuves de révélation
- * 4 moules à gel
- * 1 coupe gel
- * 8 cuves à électrodes

GROS APPAREILLAGE

- * 1 Générateur Super Compact H98119
- * 1 Agitateur magnétique chauffant 08960022
- * 1 Balance de précision Mettler PM 400 1252042
- * 1 *Pompe à vide Air Cadet* (A commander)

VERRERIE

- * 50 Béchers plastiques 50 ml 08696347
- * 1 Bécher plastique 250 ml 08698470
- * 1 Bécher plastique 1000 ml 08698606
- * 1 Eprouvette plastique 50 ml 08450348
- * 1 Eprouvette plastique 100 ml 08451400
- * 1 Eprouvette plastique 250 ml 08450474
- * 1 Eprouvette plastique 1000 ml 08450601
- * 5 Flacons 50 ml 06612345
- * 3 Flacons 100 ml 06612403
- * 1 Flacon 60 ml 08383368
- * 30 Capsules porcelaine
- * 3 Pilon porcelaine

ANNEXE II

Jardin à bois de GT1

N° de Carré	Nbr souches étudiées	RESULTAT
165	1	Conforme
167	1	Conforme
168	1	Conforme
170	3	Conforme
171	1	Conforme
173	6	Conforme
174	38	9 Faux Géotype N°1, 1 Faux Géotype N°2 28 Conformes
176	1	Conforme
177	1	Conforme
357	1	Conforme
358	1	Conforme
359	1	Conforme
360	1	Conforme
361	2	Conforme
362	86	1 Faux Géotype N°3 85 Conformes
363	1	Conforme
364	1	Conforme
365	1	Conforme
366	1	Conforme
367	1	Conforme
368	2	Conforme
402	2	Conforme
403	2	Conforme
404	2	Conforme
405	2	Conforme
406	2	Conforme
407	2	Conforme
408	2	Conforme
426	1	Conforme
427	1	Conforme
428	1	Conforme
429	1	Conforme
430	1	Conforme
431	1	Conforme
432	1	Conforme
433	1	Conforme
434	1	Conforme
435	1	Conforme
436	1	Conforme
437	1	Conforme
444	1	Conforme
445	1	Conforme
446	1	Conforme
447	1	Conforme
448	1	Conforme
449	1	Conforme
450	3	Conforme
D2	5	Conforme
JB 81	3	Conforme
JB 82	1	Conforme

ANNEXE III

JARDIN A BOIS DE PB 217 ET PB 260

PB 217

N° Carré	Nbr Individus	RESUSLTAT
6	1	Conforme
7	1	Conforme
8	1	Conforme
12	1	Conforme
13	1	Conforme
19	7	Conforme
68	1	Conforme
129	1	Conforme
132	1	Conforme
135	1	Conforme
138	1	Conforme
141	1	Conforme
179	2	Conforme
224	1	Conforme
225	1	Conforme
420	1	Conforme
421	1	Conforme

PB 260

N° Carré	Nbr Individus	RESULTAT
108	5	Conforme
109	1	Conforme
110	1	Conforme
160	1	Conforme
182	7	Conforme
185	1	Conforme
188	1	Conforme
191	1	Conforme
194	7	Conforme
369	1	Conforme

ANNEXE IV

RECHERCHE DE MARQUEURS

ACRE	RONDONIA	MATO GROSSO
AC.T.01.27	RO.JP.03.71 *	MT.C.5.12 *
AC.T.01.43 *	RO.A.07.103 *	MT.C.06.27 *
AC.T.02.02	RO.C.09.29	MT.C.10.06
AC.F.05.23 *	RO.C.09.69 *	MT.C.11.03
AC.F.6B.19		MT.IT.15.30 *
AC.S.08.86 *		MT.IT.16.70 *
AC.S.08.116		MT.A.19.03 *
AC.S.10.10 *		MT.VB.25A.08 *
AC.S.11.02 *		
AC.S.12.09		
AC.S.13.04		
AC.B.17.08		
AC.B.17.09 *		
AC.B.19.11 *		
AC.B.19.97		
AC.B.20.08 *		
AC.B.20.09 *		
AC.B.20.15 *		
AC.B.20.33 *		

*** Génotypes homozygotes aux trois loccus : Estérase, Leucine Aminopeptidase et Alcool deshydrogénase.**

ANNEXE V
IDENTIFICATION CLONALE

CLONES IRCA

IRCA 15
IRCA 18
IRCA 19
IRCA 22
IRCA 27
IRCA 37
IRCA 41
IRCA 101
IRCA 109
IRCA 111
IRCA 117
IRCA 120
IRCA 126
IRCA 130
IRCA 144
IRCA 145
IRCA 202
IRCA 209
IRCA 229
IRCA 230
IRCA 303
IRCA 305
IRCA 307
IRCA 317
IRCA 321
IRCA 323
IRCA 331
IRCA 407
IRCA 408
IRCA 411
IRCA 413
IRCA 416
IRCA 427
IRCA 428
IRCA 440
IRCA 515
IRCA 523
IRCA 538
IRCA 617
IRCA 631
IRCA 707
IRCA 723
IRCA 733
IRCA 804
IRCA 814
IRCA 825
IRCA 840
IRCA 842
IRCA 871

AUTRES CLONES

PB 25
PB 49
PB 86
PB 217
PB 255
PB 280
PB 310
PB 311
PB 312
PB 314
PB 324
RRIC 4
RRIC 103
RRIM 603
RRIM 607
RRIM 701
RRIM 707
RRIM 712
RRIM 728
RRIM 729
RRIM 802
RRIM 803
RRIM 805
RRIM 806
RRIM 809
RRIM 926
PC 10
PC 28
BPM 24
PR 255
PR 300
PR 303
PR 305
PIL B 84
FDR 76
FDR 79
MDF 296
MDF 315
AC 58
RO 38
WAR 4
AVROS 157
TJIR 1
BR 2
HARBEL 61
IR 35
GU 1296
TB 28
F 4506